

⑪公開特許公報(A) 平3-5427

⑫Int.Cl.

A 61 K 37/30
47/12

識別記号

府内整理番号

⑬公開 平成3年(1991)1月11日

E

8615-4C
7624-4C

審査請求 未請求 請求項の数 9 (全12頁)

⑭発明の名称 薬剤組成物

⑮特 願 平2-123967

⑯出 願 平2(1990)5月14日

優先権主張 ⑰1989年5月12日⑯イタリア(I T)⑯20486 A/89

⑰発明者 ヴアレリオ アリヴェ イタリア国 バレセ カステランツア ヴィア トラヴエルテイ ルセーラ 1

⑰発明者 ルチアーノ ドリゴツ テイ イタリア国 ミラノ バシグリオ ヴィア ソルコ 1111

⑰発明者 テオドーロ フエニー オ イタリア国 ミラノ アレセ ヴィアレ センビオン 21
/54

⑯出願人 アイ・エス・エフ エス・ビー・エイ オ ビアレオナルド ダ ピンチ 1

⑰代理人 弁理士 新部 興治 外3名

最終頁に続く

明細書

1. 発明の名称

薬剤組成物

2. 特許請求の範囲

1. カルシトニン遺伝子と関連のあるペプチド、吸収エンハンサーとしてグリシルリジン酸塩の有効量、および薬剤として許容されるキャリヤーからなる薬剤組成物。

2. 請求項1に記載の組成物において、グリシルリジン酸塩がグリシルリジン酸アンモニウムである組成物。

3. 請求項1または2のいずれかに記載の組成物において、グリシルリジン酸塩の濃度が組成物の全重量の少なくとも0.1% (重量比) に相当する濃度で存在する組成物。

4. 請求項3に記載の組成物において、グリシルリジン酸塩の濃度が0.5ないし5% (重量比) である組成物。

5. 請求項1ないし4のいずれか1つに記載の組成物において、カルシトニン遺伝子に関連するペプチドがh-CGRPである組成物。

6. 請求項1ないし5のいずれか1つに記載の組成物において、鼻粘膜に塗布するのに適した液状またはゲル状の組成物。

7. 請求項6に記載の組成物において、グリシルリジン酸塩が組成物100mlにつき約2gに相当する量で存在する組成物。

8. 請求項1ないし7のいずれか1つに記載の組成物において、約4.5から約6の範囲内のpHをもつ組成物。

9. 請求項1ないし8のいずれかに記載の組成物において、スプレーとして投与するよう容器に収められた組成物。

3. 発明の詳細な説明

本発明はカルシトニン遺伝子に関連のあるペプチド (CGRP) を投与するための新規

特開平3-5427(2)

(τ -CGRP) がある。

このようなペプチドはつぎの構造をもつと信じられている：

$\begin{array}{c} \text{H-A-Cys-B-Thr-Ala-Thr-Cys-Val-Thr-His-Arg-} \\ | \\ \text{Leu-Ala-Gly-Leu-Leu-Ser-Arg-Ser-Gly-Gly-C-} \\ | \\ \text{Val-Lys-D-Asn-Phe-Val-Pro-Thr-Ash-Val-Gly-} \\ | \\ \text{Ser-E-Ala-Phe-NH}_2 \end{array}$

上記の式において、 τ -CGRPの場合のように、AはSer、BはAsn、CはVal、DはAsp、そしてEはGluであるか；または α -CGRPのアルファ形の場合のように、AはAla、BはAsp、CはVal、DはAsn、そしてEはLysであるか；または β -CGRPのベータ形の場合のように、AはAla、BはAsn、CはMet、DはSer、そしてEはLysである。

CGRPの他の例にはヨーロッパ特許出願EP 270,376-Aに記載のニウトリ

GRP (α -CGRP)。

$\begin{array}{c} \text{Ia-Cys-Asn-Thr-Ala-Thr-Cys-Val-Thr-His-Arg-Leu-} \\ | \\ \text{-Asp-Phe-Leu-Ser-Arg-Ser-Gly-Gly-Val-Gly-Lys-Asn-} \\ | \\ \text{-Phe-Val-Pro-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH}_2 \end{array}$

ならびにヨーロッパ特許出願EP 188,400-A、US 4,530,838、およびUS 4,549,986に記載のCGRPがある。カルシトニン遺伝子に関連のあるペプチドはカルシウム代謝異常、心臓血管異常、および諸種のカイストなどの各種の疾患の治療に用いるよう提案されている；たとえばEP 0,156,772A…EP 270,376-Aを見よ。

ペプチド投与に関して考慮すべき問題でよく知られているのは、それらペプチドが経口的に投与されたときに、酸および酵素により急速に分解されやすいことである。このため、いままでは非経口的投与がもっとも広く

用いられた投与法であり、カルシトニンのような高分子量ペプチドの場合には唯一の明らかに有効な投与法であった。

注射による投与は不便であるとともに患者にとって不愉快なことは広く認められており、たとえば閉経後の骨粗ショウ症の治療にカルシトニンと用いる場合のように長期間にわたって一定間隔で投与を繰り返すときなどは特にそうである。したがって、もっと苦痛の少ない受け入れやすい別の方法でペプチドを投与することに関心が増してきている。たとえば、舌下錠、座薬、肺内粉末剤、鼻内ドロップ、スプレー、粉薬、ゲル、塗薬、および輸入薬などがある（たとえばEP 173990（ティジン）、US 4,476,116（シンテクス）、およびGB 2,042,888（ティジン）を見よ）。

多くのペプチド、特に高分子量ペプチド、について考慮すべき問題はそれらペプチドの生体膜、たとえば粘膜、を通しての吸収が極

めて悪く、そのためにペプチドの生物利用度が非常に低いことが多いということである。それゆえにペプチドの上皮通過吸収をよくする方法を見出すためにおおくの研究がなされた。そのひとつ的方法は補助剤または吸収エンハンサーを使うことであり、ペプチド吸収増強性をもつとされる化合物の報告が多数刊行されている。

たとえば、コリンエステル類 (EP 21 4,898)、アクリルカルニチン類 (EP 215697)、アルドースおよびグルコサミン類 (日本特許出願 No. 61 126 034)、アスコルビン酸塩およびサリチル酸塩 (EP 37943)、アルファーシクロデキストリン (EP 0094157)、ピログルタミン酸エステル類 (EP 1739 90)、キレート剤 (US 4,476,116)、および他の種々の化合物 (EP 1 83527) が吸収エンハンサーとして提起された。

鼻粘膜の構造の完全さを乱したり、または傷つける能力から生じている、すなわち界面活性剤が痛みや組織損傷を与える動きがあるのはその吸収促進能力と直接結びついている、といわれている (平井その他、上掲書を見よ)。

痛みや組織損傷を起こし、その結果として患者が我慢できなくなることが、ペプチドの塗布を長期間規則的に続けるときには、極めて重大な問題になる。

ペプチド吸収性を高める方法の研究を続けていると、非経口的方法以外の方法でペプチドを投与できてペプチドの適当な血中濃度を与える組成物、すなわち生体にうまく適用できてしまふ重要なことは長期にわたり患者に十分に堪えられるような含ペプチド組成物への要求があることが明らかである。

グリシルリジン酸の名で知られているグリシルレチン酸の 3-(2-O-β-D-グルコピランウロノシル-α-D-グルコピラノ

ン-甘草の 1 成分であるグリシルレチン酸ナトリウムがインシュリンの鼻よりの吸収を増強させることが報告された (三島その他、薬物生体機能学誌, 10, s-69 (1987))。しかしながらこの報告の著者はインシュリンの吸収エンハンサーとしてグリシルレチン酸ナトリウムはカプリン酸ナトリウムより弱いことを示している。

界面活性剤がペプチドの吸収を増強するという報告が多く出版されている (たとえば EP 115627 (Armour), GB 2,127,689 (Sandoz), US 4,548,922 (Carey その他) および 平井その他、国際薬学誌, 9, 165-184, 1981 を見よ)。

しかし界面活性剤の吸収促進剤についてよく知られた問題点として、その塗布部分に痛みや組織損傷を起こすことがある。鼻に塗布する場合について、界面活性剤が吸収を高める能力は、すくなくともその一部は、

シドウロン酸) 調導体とその塩は優れた粘膜吸収促進性を持つだけでなく、そのうえ長期間服用しても吸収促進剤にありがちの上記の毒性を生じないということが今では知られている。

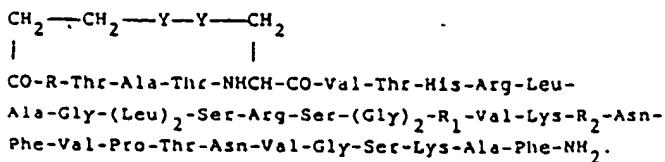
以上のように本発明は第一に、カルシトニン遺伝子と関連のあるペプチドの粘膜を経ての吸収を増強する方法を提供するものであり、その方法はカルシトニン遺伝子と関連のあるペプチドとともにグリシルリジン酸塩の有効量を吸収エンハンサーとしてともに投与するものである。

本発明はまたカルシトニン遺伝子に関連のあるペプチド、吸収エンハンサーとしてのグリシルリジン酸塩の有効量、および薬剤的に許容されるキャリヤーからなる薬剤組成物を提供するものである。

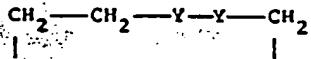
ここで用いているグリシルリジン酸塩という言葉はグリシルリジン酸とそのカルボン酸塩を意味している。グリシルリジン酸塩の例

としてはグリシルリジン酸アンモニウムとアルカリ金属塩、すなわち例えばグリシルリジン酸ナトリウムである。望ましいのはグリシルリジン酸アンモニウムである。

ここで用いられているカルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)という言葉は天然産のCGRPのみでなく、国際特許出願(例えばE.P. 212,432A; JP 63-258,490A; EP 270,376A)に記載されているように、1つまたは2つ以上のアミノ酸を置換、逆転、誘導体変換、またはいくつかのアミノ酸を除去あるいは挿入した合成類似体をも意味する。後者の例にはたとえば、

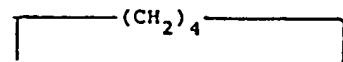


$\text{Y} = \text{S or CH}_2$
 $\text{R} = \text{Asp or Asn}$
 $\text{R}_1 = \text{Val or Met}$
 $\text{R}_2 = \text{Asn or Ser}$



$\text{Asp-Phe-Leu-Ser-Arg-Ser-Gly-Gly-Val-Gly-Lys-Asn-}$
 $\text{Asn-Phe-Val-Pro-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-}$
 NH_2

$\text{Y} = \text{S or CH}_2$
 $\text{A} = \text{Asn or Asp}$



カルシトニン遺伝子関連ペプチドとして望ましいのはh-CGRPとその類似体である。

本発明の組成物を投与するには、溶剤として活性のある物質を粘膜を通して伝達する方法として従来知られている方法で適切に投与できる。本組成物は、たとえば鼻、舌下、口腔内、直腸、膣などの粘膜に投与することができ、また形態としてはドロップ状、エアロゾル、錠剤、粉末、ゲル、塗薬、挿入剤、座薬、ペッサリ、膏薬、膜状として用いられる。この組成物はまた、例えばEP 127535(ハダッサ医学機器)に記載されているように腸内で溶けだすように被覆された固体の経口錠組成物の形で用いることもできる。

例としては鼻粘膜投与用に適られた組成物がある。

本組成物を鼻粘膜に塗布しようとするときには、その投与形態としてエアロゾル、ドロップ状、およびゲル状がある。エアロゾル剤は典型的には生理的に許容されている水ま

たは非水溶媒に溶かして、浴液または活性物質の微細な懸濁液とされ、ふつう1回または数回量を無菌状態で容器に封入してある。この密封容器は噴霧器で使うようにカートリッジまたは補充容器の形にするか、1回のみ使用する容器、たとえば鼻吸入1回量入り、や計量バルブに差しめるエアロゾル容器になっているが、後者の場合は容器の内容物が消費されたときは容器を捨てる必要になっている。投与する形がエアロゾルで容器に入っているときには、圧縮空気やフルオルクロル炭化水素のような有機噴出剤などの圧縮気体の噴出剤が入っているだろう。このようなエアロゾル容器は従来技術でよく知られている。エアロゾルの投与形態はまたポンプ噴霧器の形をとることも可能で、そのような形態もまた従来技術でよく知られている。

エアロゾルをスプレーとして与える噴霧器や供給器は典型的には10オングストロームより大きい粒子を与えるように設計されてい

る。この組成物が口や鼻の粘膜に接触してかなりの量が確実に残り、吸収されてしまわないためには、粒子の大きさはおよそ 10 - 160 オングストロームであるのが好適である。

本組成物を液体スプレーとして塗布するときは液状組成物の粘度は組成物がスプレー可能であるように必要に応じて既知の方法で調節されるだろう。

本処方で用いられている溶媒や液状キャリヤーは水が望ましいが、生理的に許容できる非水溶媒を使ってもよい。非水溶媒またはキャリヤーの例はアルコール、特にプロピレングリコールやグリセリンのような多価アルコール、や植物油、鉱物油である。このような非水溶媒やキャリヤーは種々の濃度で水に加えて溶液、水中油エマルジョン、水中油エマルジョンを作ることができる。溶媒としてはなるべく水を用いるのがよい。

溶媒やキャリヤー以外に、本発明の液状製

剤は酸化防止剤、安定剤、防腐剤、粘度および弾力性調節剤、および緩衝剤などの添加物を加えることもできる。

防腐剤を用いるときには、製剤を保存するのに必要な量に止め、鼻粘膜に痛みを起こさないようにする。このことは製剤を長期にわたって用いる予定のときに特に重要である。適当な防腐剤には p-ヒドロキシ安息酸メチル、p-ヒドロキシ安息酸プロピルなどの p-ヒドロキシ安息酸アルキル(パラベンズ)である。防腐剤には塩化ベンザルコニウムを含まないのが望ましい。

口または舌下に投与するために適した投薬形態はゲル、懸濁液、錠剤、膏薬、粉末、塗布液、および浴液である。膜や直腸に投与するのに適した投薬形態にはペッサリー、座薬、溶液、泡、懸濁液、ゲル、塗布液、および錠剤がある。

上述の組成物は既知の製薬操作のよって製造できる。例えばレミントン著“製薬科学”

17版、マック出版社、1985を見よ。

本組成物が腸管に入るまで露出しないように被覆されていて、経口的に投与されるのであれば、確実にカルシトニン遺伝子関連ペプチドを胃を通過させ、その後腸内で溶け出させるような被覆剤で被覆した錠剤やカプセルの形で用いるのが普通である。被覆剤として適しているものにはアクリル酸エステルおよびメタクリル酸エステルの共重合体がある(例えばユウドラジット L、ユウドラジット S およびその混合物)。

本発明の組成物は各種の心筋血管障害、かい瘡、およびカルシウム代謝障害の治療に用いることができる。

本組成物を患者に投与する量は間歇の疾患を治療するのに有効な量のカルシトニン遺伝子関連ペプチドを含む量となるだろう。投与量は疾患の種類とその重さによるだろうが、最終的には医者の判断で決められるであろう。

本発明の組成物の単位投与量中の CGRP

量はその CGRP の効力と組成物の種類によって違う。しかし一般には人用の単位投与量は典型的には CGRP 1 ~ 100 マイクログラムである。

製剤が液状、特にスプレーのとき、単位投与量は典型的には 50 ~ 200 マイクロリットルである。

本発明の組成物の pH は組成物中の種々の成分の化学物理的性質によって広範囲に変わり得る。しかし本組成物の pH として適しているのは pH 3 ~ 8 の範囲であり、特に pH 約 4.5 から約 6 のあいだである。

ある特定の pH 値を維持するために緩衝剤を使用することができる。

緩衝剤の例としてはクエン酸塩、リン酸塩、または酢酸塩があり、実例はクエン酸とクエン酸ナトリウムの混合物である。

グリシルリジン酸塩吸収エンハンサーの濃度は、組成物の全量に対して、典型的には少なくとも 0.1% (重量比) であり、0.5

ないし10% (重量比) が適しており、望ましくは0.5ないし5% (重量比) である。

組成物が液状またはゲルの場合、グリシルリジン酸塩は組成物100mlにつき0.5ないし5gに相当する量で存在するのが適している。望ましいのはグリシルリジン酸塩が約2g/100mlに相当する量で存在することである。

水溶液状の組成物の場合、最終の薬剤形、すなわち液状溶液であるかゲルであるか、はそのグリシルリジン酸塩を含む溶液のpHとイオン強度によるだろう。一般にはpHが約4.5以上の組成物は液体であり、pH値が低い組成物は粘度が高くなる傾向があり、pH3.5付近ではゲル形になるだろう。

本発明を次の実施例によってさらに詳細に説明する。

実施例 1 - 4

表 1

実施例番号	1	2	3	4
h-CGRP (mg)	1.05	1.05	1.05	1.05
グリシルリジン酸				
アンモニウム (g)	0.5	1	2	5
クエン酸 (g)	37	37	37	37
クエン酸ナトリウム				
2水塩 (g)	463	463	463	463
蒸留水	合量を100mlにする量			
1N水酸化ナトリウム	pHを6にする量			

実施例1ないし4の薬剤はグリシルリジン酸アンモニウム、クエン酸、クエン酸ナトリウム2水塩、蒸留水、および水酸化ナトリウムを約60℃に調節されたウォーターバス内で混合して調製する。得られる溶液は常温まで放冷し、つぎにh-CGRPを加える。

実施例 5 - 8

実施例 9 - 12

表 2

実施例番号	5	6	7	8
h-CGRP (mg)	21.10	21.10	21.10	21.10
グリシルリジン酸				
アンモニウム (g)	0.5	1	2	5
クエン酸 (g)	37	37	37	37
クエン酸ナトリウム				
2水塩 (g)	463	463	463	463
蒸留水	合量を100mlにする量			
1N水酸化ナトリウム	pHを6にする量			

実施例5ないし8の薬剤はグリシルリジン酸アンモニウム、クエン酸、クエン酸ナトリウム2水塩、蒸留水、および水酸化ナトリウムを約60℃に調節されたウォーターバス内で混合して調製する。得られる溶液は常温まで放冷し、つぎにh-CGRPを加える。

表 3

実施例番号	9	10	11	12
h-CGRP (mg)	52.50	52.50	52.50	52.50
グリシルリジン酸				
アンモニウム (g)	0.5	1	2	5
クエン酸 (g)	37	37	37	37
クエン酸ナトリウム				
2水塩 (g)	463	463	463	463
蒸留水	合量を100mlにする量			
1N水酸化ナトリウム	pHを6にする量			

実施例9ないし12の薬剤はグリシルリジン酸アンモニウム、クエン酸、クエン酸ナトリウム2水塩、蒸留水、および水酸化ナトリウムを約60℃に調節されたウォーターバス内で混合して調製する。得られる溶液は常温まで放冷し、つぎにh-CGRPを加える。

実施例 13 - 16

実施例 17 - 20

表 4

実施例番号

	13	14	15	16
h-CGRP (mg)	1.05	1.05	1.05	1.05
グリシンレジン酸アンモニウム(g)	0.5	1	2	5
クエン酸 (mg)	37	37	37	37
クエン酸ナトリウム2水塩(mg)	463	463	463	463
p-ヒドロキシ安息香酸メチル(mg)	130	130	130	130
p-ヒドロキシ安息香酸アロビル(mg)	20	20	20	20
蒸留水	合量を100 mlにする量			
1N 水酸化ナトリウム	pHを6にする量			

実施例13ないし16の調剤はグリシルリジン酸アンモニウム、クエン酸、クエン酸ナトリウム2水塩、p-ヒドロキシ安息香酸メチル、p-ヒドロキシ安息香酸アロビル、蒸留水、および水酸化ナトリウムを約60℃に調節されたウォーターバス内で混合して調製する。得られる溶液は室温まで放冷し、つぎにh-CGRPを加える。

表 5

実施例番号

	17	18	19	20
h-CGRP (mg)	21.10	21.10	21.10	21.10
グリシンレジン酸アンモニウム(g)	0.5	1	2	5
クエン酸 (mg)	37	37	37	37
クエン酸ナトリウム2水塩(mg)	463	463	463	463
p-ヒドロキシ安息香酸メチル(mg)	130	130	130	130
p-ヒドロキシ安息香酸アロビル(mg)	20	20	20	20
蒸留水	合量を100 mlにする量			
1N 水酸化ナトリウム	pHを6にする量			

実施例17ないし20の調剤はグリシルリジン酸アンモニウム、クエン酸、クエン酸ナトリウム2水塩、p-ヒドロキシ安息香酸メチル、p-ヒドロキシ安息香酸アロビル、蒸留水、および水酸化ナトリウムを約60℃に調節されたウォーターバス内で混合して調製する。得られる溶液は室温まで放冷し、つぎにh-CGRPを加える。

実施例 21 - 24

実施例 25 - 27

表 6

実施例番号

	21	22	23	24
h-CGRP (mg)	52.50	52.50	52.50	52.50
グリシンレジン酸アンモニウム(g)	0.5	1	2	5
クエン酸 (mg)	37	37	37	37
クエン酸ナトリウム2水塩(mg)	463	463	463	463
p-ヒドロキシ安息香酸メチル(mg)	130	130	130	130
p-ヒドロキシ安息香酸アロビル(mg)	20	20	20	20
蒸留水	合量を100 mlにする量			
1N 水酸化ナトリウム	pHを6にする量			

実施例21ないし24の調剤はグリシルリジン酸アンモニウム、クエン酸、クエン酸ナトリウム2水塩、p-ヒドロキシ安息香酸メチル、p-ヒドロキシ安息香酸アロビル、蒸留水、および水酸化ナトリウムを約60℃に調節されたウォーターバス内で混合して調製する。得られる溶液は室温まで放冷し、つぎにh-CGRPを加える。

表 7

実施例番号

	25	26	27
h-CGRP (mg)	1.05	21.10	52.50
グリシンレジン酸アンモニウム(g)	0.5	0.5	0.5
クエン酸 (mg)	37	37	37
クエン酸ナトリウム2水塩(mg)	463	463	463
p-ヒドロキシ安息香酸メチル(mg)	130	130	130
p-ヒドロキシ安息香酸アロビル(mg)	20	20	20
蒸留水	合量を100 mlにする量		
1N 水酸化ナトリウム	pHを6にする量		

実施例25ないし27の調剤はグリシルリジン酸アンモニウム、クエン酸、クエン酸ナトリウム2水塩、p-ヒドロキシ安息香酸メチル、p-ヒドロキシ安息香酸アロビル、蒸留水、および水酸化ナトリウムを約60℃に調節されたウォーターバス内で混合して調製する。得られる溶液は室温まで放冷し、つぎにh-CGRPを加える。これらの実施例の調剤はゲル状である。

実施例 28 - 31

表 8				
実施例番号				
	28	29	30	31
h-CGRP (mg)	1.05	1.05	1.05	1.05
グリシルリジン酸アンモニウム(g)	0.5	1	2	5
クエン酸 (mg)	37	37	37	37
クエン酸ナトリウム2水塩 (mg)	463	463	463	463
p-ヒドロキシ安息香酸メチル(mg)	130	130	130	130
p-ヒドロキシ安息香酸アセル(mg)	20	20	20	20
塩化ナトリウム (mg)	600	600	600	600
蒸留水	合量を100 mlにする量			
IN水酸化ナトリウム	pHを6にする量			

実施例28ないし31の製剤はグリシルリジン酸アンモニウム、クエン酸、クエン酸ナトリウム2水塩、p-ヒドロキシ安息香酸メチル、p-ヒドロキシ安息香酸アセル、塩化ナトリウム、蒸留水、および水酸化ナトリウムを約60℃に調節されたウォーターバス内で混合して調製する。得られる溶液は室温まで放冷し、つぎにh-CGRPを加える。

実施例 36 - 39

表 10				
実施例番号				
	36	37	38	39
h-CGRP (mg)	52.20	52.50	52.50	52.50
グリシルリジン酸アンモニウム(g)	0.5	1	2	5
クエン酸 (mg)	37	37	37	37
クエン酸ナトリウム2水塩 (mg)	463	463	463	463
p-ヒドロキシ安息香酸メチル(mg)	130	130	130	130
p-ヒドロキシ安息香酸アセル(mg)	20	20	20	20
塩化ナトリウム (mg)	600	600	600	600
蒸留水	合量を100 mlにする量			
IN水酸化ナトリウム	pHを6にする量			

実施例36ないし39の製剤はグリシルリジン酸アンモニウム、クエン酸、クエン酸ナトリウム2水塩、p-ヒドロキシ安息香酸メチル、p-ヒドロキシ安息香酸アセル、塩化ナトリウム、蒸留水、および水酸化ナトリウムを約60℃に調節されたウォーターバス内で混合して調製する。得られる溶液は室温まで放冷し、つぎにh-CGRPを加える。

実施例 32 - 35

表 9				
実施例番号				
	32	33	34	35
h-CGRP (mg)	21.10	21.10	21.10	21.10
グリシルリジン酸アンモニウム(g)	0.5	1	2	5
クエン酸 (mg)	37	37	37	37
クエン酸ナトリウム2水塩 (mg)	463	463	463	463
p-ヒドロキシ安息香酸メチル(mg)	130	130	130	130
p-ヒドロキシ安息香酸アセル(mg)	20	20	20	20
塩化ナトリウム (mg)	600	600	600	600
蒸留水	合量を100 mlにする量			
IN水酸化ナトリウム	pHを6にする量			

実施例32ないし35の製剤はグリシルリジン酸アンモニウム、クエン酸、クエン酸ナトリウム2水塩、p-ヒドロキシ安息香酸メチル、p-ヒドロキシ安息香酸アセル、塩化ナトリウム、蒸留水、および水酸化ナトリウムを約60℃に調節されたウォーターバス内で混合して調製する。得られる溶液は室温まで放冷し、つぎにh-CGRPを加える。

実施例 40-43

表 11				
実施例番号				
	40	41	42	43
h-CGRP (mg)	1.05	1.05	1.05	1.05
グリシルリジン酸アンモニウム(g)	0.5	1	2	5
クエン酸 (mg)	37	37	37	37
クエン酸ナトリウム2水塩 (mg)	463	463	463	463
p-ヒドロキシ安息香酸メチル(mg)	130	130	130	130
p-ヒドロキシ安息香酸アセル(mg)	20	20	20	20
塩化ナトリウム (mg)	600	600	600	600
ポリソルベイト80 (mg)	5	5	5	5
蒸留水	合量を100 mlにする量			
IN水酸化ナトリウム	pHを6にする量			

実施例40ないし43の製剤はグリシルリジン酸アンモニウム、クエン酸、クエン酸ナトリウム2水塩、p-ヒドロキシ安息香酸メチル、p-ヒドロキシ安息香酸アセル、塩化ナトリウム、ポリソルベイト80、蒸留水、および水酸化ナトリウムを約60℃に調節されたウォーターバス内で混合して調製する。得られる溶液は室温まで放冷し、つぎにh-CGRPを加える。

実施例 44-47

表 12

	実施例番号			
	44	45	46	47
h-CGRP (mg)	21.10	21.10	21.10	21.10
グリシルリジンアミノニウム (g)	0.5	1	2	5
クエン酸 (mg)	37	37	37	37
クエン酸ナトリウム2水塩 (mg)	463	463	463	463
p-ヒドロキシ安息香酸メチル (mg)	130	130	130	130
p-ヒドロキシ安息香酸メチル (mg)	20	20	20	20
塩化ナトリウム (mg)	600	600	600	600
ポリソルベイト 80 (mg)	5	5	5	5
蒸留水	合量を100 mlにする量			
IN 水酸化ナトリウム	pH を 6 にする量			

実施例44ないし47の調剤はグリシルリジン酸アンモニウム、クエン酸、クエン酸ナトリウム2水塩、p-ヒドロキシ安息酸メチルp-ヒドロキシ安息酸メチル、塩化ナトリウム、ポリソルベイト80、蒸留水、および水酸化ナトリウムを約60℃に調節されたウォーターバス内で混合して調製する。得られる溶液は室温まで放冷し、つぎにh-CGRPを加える。

実施例

表 13

	実施例番号			
	48	49	50	51
h-CGRP (mg)	52.50	52.50	52.50	52.50
グリシルリジンアミノニウム (g)	0.5	1	2	5
クエン酸 (mg)	37	37	37	37
クエン酸ナトリウム2水塩 (mg)	463	463	463	463
p-ヒドロキシ安息酸メチル (mg)	130	130	130	130
p-ヒドロキシ安息酸メチル (mg)	20	20	20	20
塩化ナトリウム (mg)	600	600	600	600
ポリソルベイト 80 (mg)	5	5	5	5
蒸留水	合量を100 mlにする量			
IN 水酸化ナトリウム	pH を 6 にする量			

実施例48ないし51の調剤はグリシルリジン酸アンモニウム、クエン酸、クエン酸ナトリウム2水塩、p-ヒドロキシ安息酸メチルp-ヒドロキシ安息酸メチル、塩化ナトリウム、ポリソルベイト80、蒸留水、および水酸化ナトリウムを約60℃に調節されたウォーターバス内で混合して調製する。得られる溶液は室温まで放冷し、つぎにh-CGRPを加える。

実施例 52-55

表 14

	実施例番号			
	52	53	54	55
h-CGRP (mg)	1.05	1.05	1.05	1.05
グリシルリジンアミノニウム (g)	0.5	1	2	5
クエン酸 (mg)	37	37	37	37
クエン酸ナトリウム2水塩 (mg)	463	463	463	463
p-ヒドロキシ安息酸メチル (mg)	130	130	130	130
p-ヒドロキシ安息酸メチル (mg)	20	20	20	20
塩化ナトリウム (mg)	600	600	600	600
ポリソルベイト 80 (mg)	5	5	5	5
蒸留水	合量を100 mlにする量			
IN 水酸化ナトリウム	pH を 6 にする量			

実施例5.2ないし5.5の調剤はグリシルリジン酸アンモニウム、クエン酸、クエン酸ナトリウム2水塩、p-ヒドロキシ安息酸メチルp-ヒドロキシ安息酸メチル、塩化ナトリウム、ポリソルベイト80、蒸留水、および水酸化ナトリウムを約60℃に調節されたウォーターバス内で混合して調製する。得られる溶液は室温まで放冷し、つぎにh-CGRPを加える。

実施例 56-59

表 15

	実施例番号			
	56	57	58	59
h-CGRP (mg)	21.10	21.10	21.10	21.10
グリシルリジンアミノニウム (g)	0.5	1	2	5
クエン酸 (mg)	37	37	37	37
クエン酸ナトリウム2水塩 (mg)	463	463	463	463
p-ヒドロキシ安息酸メチル (mg)	130	130	130	130
p-ヒドロキシ安息酸メチル (mg)	20	20	20	20
塩化ナトリウム (mg)	600	600	600	600
ポリソルベイト 80 (mg)	5	5	5	5
蒸留水	合量を100 mlにする量			
IN 水酸化ナトリウム	pH を 6 にする量			

実施例56ないし59の調剤はグリシルリジン酸アンモニウム、クエン酸、クエン酸ナトリウム2水塩、p-ヒドロキシ安息酸メチルp-ヒドロキシ安息酸メチル、塩化ナトリウム、ポリソルベイト80、蒸留水、および水酸化ナトリウムを約6.0℃に調節されたウォーターバス内で混合して調製する。得られる溶液は室温まで放冷し、つぎにh-CGRPを加える。

実施例 60-63

表 16

	実施例番号			
	60	61	62	63
h-CGRP (mg)	52.50	52.50	52.50	52.50
グリシルリジン酸アンモニウム (g)	0.5	1	2	5
クエン酸 (mg)	37	37	37	37
クエン酸ナトリウム2水塩 (mg)	463	463	463	463
p-ヒドロキシ安息香酸メチル (mg)	130	130	130	130
p-ヒドロキシ安息香酸プロピル (mg)	20	20	20	20
塩化ナトリウム (mg)	600	600	600	600
ポリソルベイト 80 (mg)	5	5	5	5
蒸留水	合量を100 mlにする量			
IN 水酸化ナトリウム	pH を 6 にする量			

実施例 60 ないし 63 の製剤はグリシルリジン酸アンモニウム、クエン酸、クエン酸ナトリウム2水塩、p-ヒドロキシ安息香酸メチル、p-ヒドロキシ安息香酸プロピル、塩化ナトリウム、ポリソルベイト 80、蒸留水、および水酸化ナトリウムを約 60 ℃に調節されたウォーターバス内で混合して調製する。得られる溶液は室温まで放冷し、つぎに h-CGRP を加える。

実施例 66 - 68

表 18

	実施例番号		
	66	67	68
h-CGRP (mg)	1.05	21.10	52.50
グリシルリジン酸アンモニウム (g)	2.0	2.0	2.0

合計かん量にならしむる
ラクトース (g) 25.0 25.0 25.0

実施例 66 ないし 68 の製剤はラクトースを h-CGRP の水溶液で混らし、減圧下に乾燥して調製する。この乾燥粉末をグリシルリジン酸アンモニウムと混合し、最終結合物をゼラチン袋のカプセルに入れる（各カプセルに 2.5 g づつ）。カプセルに穿孔したのち、吸吹き付け器を使って粉末を投与する。

実施例 64 - 65

表 17

	実施例番号	
	64	65
c-CGRP (mg)	0.56	20.50
グリシルリジン酸アンモニウム (g)	2	2
クエン酸 (mg)	37	37
クエン酸ナトリウム2水塩 (mg)	463	463
p-ヒドロキシ安息香酸メチル (mg)	130	130
p-ヒドロキシ安息香酸プロピル (mg)	20	20
塩化ナトリウム (mg)	600	600
蒸留水	合量を100 mlにする量	
IN 水酸化ナトリウム	pH を 6 にする量	

実施例 64 ないし 65 の製剤はグリシルリジン酸アンモニウム、クエン酸、クエン酸ナトリウム2水塩、p-ヒドロキシ安息香酸メチル、p-ヒドロキシ安息香酸プロピル、塩化ナトリウム、蒸留水、および水酸化ナトリウムを約 60 ℃に調節されたウォーターバス内で混合して調製する。得られる溶液は室温まで放冷し、つぎに h-CGRP を加える。

舌下錠

実施例 69 - 71

表 19

	実施例番号		
	69	70	71
h-CGRP (mg)	2.10	21.10	52.50
グリシルリジン酸アンモニウム (g)	4.0	4.0	4.0
スクロース (g)	35.0	35.0	35.0
マニトール (g)	35.0	35.0	35.0
ポリエチレンマニトール (g)	10.0	10.0	10.0
合計かん量にならしむる ラクトース (g)	120.0	120.0	120.0

実施例 69 ないし 71 の製剤はスクロース、マニトール、およびラクトースを混合して調製される。得られる結合物は h-CGRP の水溶液で混らし、ステインレススチールの網を通して粒状にし、減圧下に乾燥する。乾燥粒にポリエチレンマニトールとグリシルリジン酸アンモニウムを混ぜ、圧縮して 1 個 1.20 mg の錠剤にする。

粘膜へ送達する経口錠剤

実施例 72 - 74

表 20

	実施例番号		
	7.2	7.3	7.4
h-CGRP (mg)	21.10	52.50	103.20
グリシルリジン酸アンモニウム (g)	6.0	6.0	6.0
ココナツオレイン酸 (g)	80.0	80.0	80.0
ステアリン酸マグネシウム (g)	2.0	2.0	2.0
ラクトース (g)	210.0	210.0	210.0
ユウドジットS (g)	20.0	20.0	20.0
ポリエチレングリコール6000 (g)	2.0	2.0	2.0

実施例 72 ないし 74 の錠剤はあらかじめゼラチンで被覆したデンプンとラクトースを混ぜて調製される。得られる混合物は h-CGRP の水溶液で溶かし、ステインレススチールの網を通して粒状にし、減圧下に乾燥する。乾燥粒にグリシルリジン酸アンモニウムとステアリン酸マグネシウムを混ぜ、圧縮して 1 個 210 mg の錠剤にする。

この錠剤はポリエチレングリコールとユウドジットで被覆して、最終重量を 1 個 232 mg とする。

これらの錠剤を体重 160 ± 10 g の雄性スプラグ・ドーレイ・ラット 10 四の群に、小カテーテル（体積 10 マイクロリットル）を使って、鼻の中に投与した。この動物は 1 夜絶食させ、2% トリプロムエタノール（TBE）（体重 100 g について 0.9 ml, i. p. 投与）で 15 分間麻酔をかけ、その後 h-CGRP を与えた。

本製品を投与 60、120、および 180 分後、それぞれの動物の眼窩洞から採取した血液の血清中のカルシウム濃度を（原子吸光分光器ヴァリアン 30/40 で）測定した。同時に、上述のように絶食させ・麻酔をかけるがなんら処置せずに置いたラットについて基準値を求めた。

結果を表 21 に報告する。

実施例 75

試行 A

吸収エンハンサーとしてグリシルリジン酸アンモニウム 0.5% を含む実施例 32 に報告された製剤と吸収エンハンサーとしてグリシルリジン酸アンモニウム 2% を含む実施例 34 に報告された製剤を他の製剤と比較して、薬物力学的テスト、すなわち血清中のカルシウム濃度低下能力のテスト、を行なった。比較に用いた製剤は次の通りである：

グリシルリジン酸アンモニウム以外は同じ濃度の h-CGRP と同じ共存成分物質をもつ製剤（参照製剤 A）：同じ濃度の h-CGRP、0.01% 塩化ベンザルコニウムおよび共存成分物質としてクエン酸塩をもつ製剤（参照製剤 B）：および同じ濃度の h-CGRP、1% タウロコール酸ナトリウム、0.15% パラベン、およびクエン酸塩をもつ製剤（参照製剤 C）。

表 21

投与量 (210 mg/ラット)	血清カルシウムの減少量 (対基準値パーセント)			
	1h	2h	3h	
本発明の製剤 (実施例32に充て)	13.18	15.7	10.1	0.3
本発明の製剤 (実施例34に充て)	13.18	18.3	16.2	5.1
参照製剤 A	13.18	8.4	3.5	1.1
参照製剤 B	13.18	7.8	2.1	0.1
参照製剤 C	13.18	12.3	8.9	1.5

特開平3-5427(12)

第1頁の続き

⑦発明者 マリオ ピンザ イタリア国 ミラノ コルシコ ヴィア ベル セザノ
ボスコン 24

Translation of Japanese Patent Unexamined
Publication No. 3 - 5427

Patent Application No. 2 - 123967

Date of Patent Application 14th May, 1990

Priority

Priority date 12th May, 1989 (IT)

Priority No. 20486 A/89

Publication No. 3 - 5427

Publication date 11th January, 1991

CLAIM 1:

A pharmaceutical composition comprising calcitonin gene related peptide, effective amount of glycyrrhizinic acid as an absorption enhancer and pharmaceutically acceptable carrier.

CLAIM 6:

A composition according to claims 1 - 5 comprising liquid or gel composition applicable for nasal mucosal administration.

PTO 00-2766

CY=JP DATE=19910111 KIND=A
PN=03-005427

PHARMACEUTICAL COMPOSITION
[Yakuzaï Soseibutsu]

Valerio Aliverti, et al.

RECEIVED
200 JUN -7 AM 6:06
BOARD OF PATENT APPEALS
AND INTERFERENCES

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE
Washington, D. C. June 2000

Translated by: FLS, Inc.

1. Title

Pharmaceutical Composition

2. Claims

1. A pharmaceutical composition comprising a calcitonin gene related peptide, an effective amount of a glycyrrhizinate absorption enhancer, and a pharmaceutically acceptable carrier.

2. The composition as stated in Claim 1, wherein the glycyrrhizinate is ammonium glycyrrhizinate.

3. The composition as stated in either Claim 1 or 2, wherein the glycyrrhizinate is present in a concentration corresponding to 0.1 % (w/w) of the total weight of the composition.

4. The composition as stated in Claim 3, wherein the concentration of the glycyrrhizinate is 0.5 to 5 % (w/w).

5. The composition as stated in one of Claims 1 to 4, wherein the calcitonin gene related peptide is h-CGRP.

6. The composition as stated in one of Claims 1 to 5 in the form of a liquid or gel suitable for application to the nasal mucosa.

7. The composition as stated in Claim 6, wherein the glycyrrhizinate is present in an amount corresponding to approximately 2 g per 100 ml of the composition.

*Number in the margin indicates pagination in the foreign text.

8. The composition as stated in one of Claims 1 to 7 that has a pH in the range from approximately 4.5 to approximately 6.

9. The composition as stated in one of Claims 1 to 8 that is packaged for administration as a spray.

3. Detailed Explanation of the Invention

The present invention pertains to novel compositions for administering calcitonin gene related peptides (CGRP) and to a novel method of enhancing the absorption of such peptides across mucosal membranes. /2

Calcitonin gene related peptides are a class of peptides that are structurally distinct from calcitonin but are derived from the same gene as calcitonin. Like calcitonin, calcitonin gene related peptides in the naturally occurring forms are believed to contain approximately 37 amino acids and have disulfide bridge between cysteine residues. In CGRP, the disulfide bridge is believed to span the 2- and 7-positions of the peptide.

Examples of CGRPs include: the human CGRP (h-CGRP) described in International Patent Application PCT/EP 84/00307 (Publication No. WO 85/01656) and the rat CGRP (r-CGRP) described in European Patent Application 85810123.1 (Publication No. EP 0156772A).

Such peptides are believed to have the following structure:

H-A-Cys-B-Thr-Ala-Thr-Cys-Val-Thr-His-Arg-
Leu-Ala-Gly-Leu-Leu-Ser-Arg-Ser-Gly-Gly-C-
Val-Lys-D-Asn-Phe-Val-Pro-Thr-Asn-Val-Gly-
Ser-E-Ala-Phe-NH₂,

wherein, as in r-CGRP, A is Ser, B is Asn, C is Val, D is Asp, and E is Glu; as in h-CGRP alpha form), A is Ala, B is Asp, C is Val, D is Asn, and E is Lys; or, as in h-CGRP beta form, A is Ala, B is Asn, C is Met, D is Ser, and E is Lys.

Further examples of CGRPs include chicken CGRP (c-CGRP) as described in European Patent Application EP 270,376-A:

1a-Cys-Asn-Thr-Ala-Thr-Cys-Val-Thr-His-Arg-Leu-
-Asp-Phe-Leu-Ser-Arg-Ser-Gly-Gly-Val-Gly-Lys-Asn-
-Phe-Val-Pro-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂

[Translator's note: Part of the structure is missing in the original.]

and the CGRP described in European Patent Application EP 188,400-A, US Patent No. 4,530,838, and US Patent No. 4,549,986.

Calcitonin gene related peptides have been proposed for use in the treatments of a variety of disorder, including calcium metabolic disorders, cardiovascular disorders, and ulcers. See, for example, EP 0156772A and EP 270,376-A.

A well known problem with the administration of peptides that should be considered is that they are susceptible to rapid acid-and enzyme-induced degradation when administered orally. For this reason, parenteral administration has been, hitherto, the most widely used means of administration, and, in the case of peptides of higher molecular weights, such as the calcitonins, has been the only significant effective means of administration.

It is widely recognized that administration by injection can be both inconvenient and unpleasant for the patient, particularly when the administration has to be repeated at regular intervals

for long periods, for example, in the treatment of post-menopausal osteoporosis with calcitonins. Thus, there has been growing interest in the administration of peptides by more acceptable non-invasive alternative routes, for example, in the form of sublingual tablets, suppositories, intrapulmonary powders, intranasal drops, sprays, powders, gels, ointments, and inserts [see, for example, EP 173990 (Teijin), US Patent No. 4,476,116 (Syntex), and GB 2,042,888 (Teijin).]

A significant problem with many peptides, particularly those with higher molecular weights, is that these peptides are only poorly absorbed across biological membranes, for example, mucosal membranes, and thus the bioavailability of the peptide is often very low. Considerable research has, therefore, been carried out in order to find methods of improving the trans-epithelial absorption of peptides. One approach is to use an adjuvant or absorption enhancer, and there are numerous published reports of compounds that are claimed to have peptide absorption-enhancing properties. 13

Thus, for example, choline esters (EP 214898), acryl carnitines (EP 215697), aldoses and glucosamines (Japanese Patent Application No. 61 126034), ascorbates and salicylates (EP 37943), alpha-cyclodextrin (EP 0094157), pyroglutamate esters (EP 173990), chelating agents (US Patent No. 4,476,116), and various other compounds (EP 183527) have been proposed as absorption enhancers.

It has been reported that a component of liquorice, sodium glycyrrhetinate, can enhance the nasal absorption of insulin (Mishima et al., J. Pharmacobio. Dyn., 1987, 10, s-69.) However, the authors of the report indicated that sodium glycyrrhetinate is weaker than sodium caprate as an absorption-enhancing agent for insulin.

There are many published reports that surfactants can enhance the absorption of peptides [see, for example, EP 115627 (Armour), GB 2,127,689 (Sandoz), US 4,548,922 (Carey, et al.), and Hirai et al., Int. J. Pharm., 1981, 9, 165-184.]

However, a well recognized problem with surfactant absorption enhancers is that they can cause irritation and histolesion at the site of administration. In the case of nasal administration, it has been reported (see Hirai et al, *supra*) that the ability of a surfactant to enhance absorption arises at least in part from its ability to cause perturbation or disorder of the structural integrity of the nasal mucosa; in other words, the irritation and histolesive activity of the surfactant are directly linked to its ability to enhance absorption.

The problems of irritation, histolesion, and, consequently, poor patient tolerability become of great importance when the peptide is administered regularly over a prolonged period.

It is evident, from the continuing research into methods of improving the absorption of peptides, that there remains a need for peptide-containing compositions that enable the administration of the peptide by a route other than the

parenteral route and give rise to adequate blood levels of the peptide, that is, have good bioavailability and, importantly, that are well tolerated by the patient over a prolonged period.

It has now been found that the 3-(2-O- β -D-glucopyranuronosyl- α -D-glucopyranosiduronic acid) derivative of glycyrrhetic acid, known as glycyrrhizinic acid, and its salts not only have excellent mucosal membrane absorption-promoting properties but, moreover, do not give rise to the above-mentioned toxicity problems associated with many absorption promoters when administered over a prolonged period.

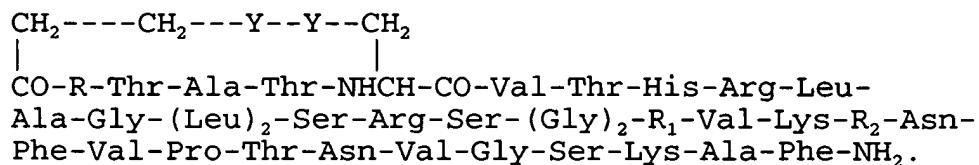
In a first aspect, therefore, the present invention provides a method of enhancing the absorption of a calcitonin gene related peptide across a mucosal membrane, which method comprises co-administering an effective amount of an absorption enhancer, which is a glycyrrhizinate, with the calcitonin gene related peptide.

The present invention also provides a pharmaceutical composition comprising a calcitonin gene related peptide, an effective amount of an absorption enhancer, which is a glycyrrhizinate, and a pharmaceutically acceptable carrier.

The term glycyrrhizinate as used herein is intended to mean both glycyrrhizinic acid and its carboxylate salts. Some examples of glycyrrhizinate salts include ammonium glycyrrhizinate and the alkali metal salts, for example, sodium glycyrrhizinate. A preferred salt is ammonium glycyrrhizinate.

The term "calcitonin gene related peptide (CGRP)" as used herein is intended to refer not only to naturally occurring CGRPs but also to synthetic analogues wherein one or more amino acids have been replaced, reversed, or derivatized, or where certain amino acids have been deleted or inserted, as described in International Patent Applications (for example, E.P. 212,432A, JP 63 258,490A, and EP 270,376A.)

The following are some examples of the latter type:

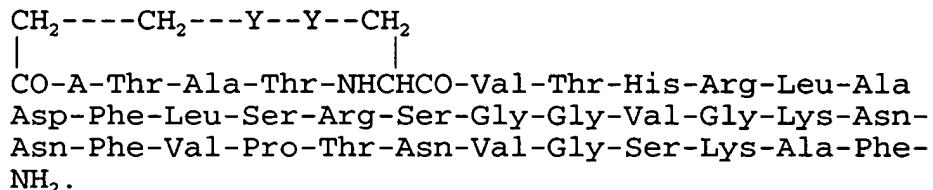


Y=S or CH₂

R=Asp or Asn;

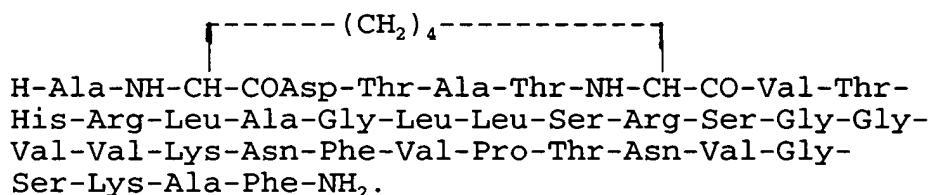
R₁=Val or Met;

R₂=Asn or Ser.



Y=S or CH₂

A=Asn or Asp.



Preferred calcitonin gene related peptides are h-CGRP and its analogues.

The compositions of the present invention suitably can be administered by methods known in the art for trans-mucosal delivery of pharmacologically active substances. The compositions can be administered to, for example, the nasal, sublingual, buccal, rectal, and vaginal mucosa and can take the form of drops, aerosols, tablets, powders, gels, ointments, inserts, suppositories, pessaries, patches, and membranes. The compositions can also take the form of enterically coated solid oral compositions as described in, for example, EP 127535 (Hadassah Medical Organization.)

Particular compositions are those intended for administration to the nasal mucosa.

When the composition is intended for delivery to the nasal mucosa, dosage forms that can be employed are aerosols, drops, and gels. Aerosol formulations typically comprise a solution or fine suspension of the active substance in a physiologically acceptable aqueous or non-aqueous solvent and are usually presented in single or multidose quantities in sterile state in a sealed container. The sealed container can take the form of a cartridge or refill for use with an atomizing device, or it can take the form of a unitary dispensing device, such as a single dose nasal inhaler, or an aerosol dispenser that can be fitted to a metering valve and that is intended for disposal once the content of the container have been exhausted. Where the dosage form comprises an aerosol dispenser, it will contain a propellant, which can be a compressed gas, such as compressed air

or an organic propellant, such as a fluorochlorohydrocarbon. Such aerosol dispensers are well known in the art. The aerosol dosage forms can also take the form of a pump-atomizer, and such forms are also well known in the art.

The atomizing or dispensing devices for dispensing aerosol sprays typically are designed to dispense particles of a size greater than 10 angstroms. In order to ensure that significant quantities of the composition remain in contact with the oral or nasal mucosa and are not inhaled, the particles suitably are approximately 10 to 160 angstroms in size. /5

When the present composition is intended to be administered as a liquid spray, the viscosity of the liquid composition will be adjusted as necessary according to known methods to ensure that the composition is sprayable.

The solvents or liquid carriers employed in the present formulations are preferably aqueous, but the physiologically acceptable non-aqueous solvents may also be used. Examples of non-aqueous solvents or carriers are alcohols, particularly polyhydric alcohols, such as propylene glycol and glycerol, and vegetable and mineral oils. Such non-aqueous solvents or carriers can be added in various concentrations to water to form solutions, water-in-oil emulsions, and water-in-oil [sic] emulsions. It is preferable to use water as the solvent.

In addition to the solvents or carriers, the liquid formulations of the present invention can contain excipients, such as antioxidants, stabilizers, preservatives, agents for

adjusting viscosity and tonicity, and buffering agents.

When a preservative is employed, it should be used only in an amount that is necessary to preserve the formulation, thereby ensuring that it does not cause the irritation of the nasal mucosa. This is particularly important when the formulation is intended to be administered on a long term basis. Suitable preservatives are the alkyl p-hydroxyl benzoates (parabens), such as methyl p-hydroxybenzoate and propyl p-hydroxybenzoate. Preferably, the preservative does not contain benzalkonium chloride.

Dosage forms that are suitable for buccal or sublingual administration are gels, suspensions, tablets, patches, powders, ointments, and solutions. Dosage forms that are suitable for vaginal and rectal administration include pessaries, suppositories, solutions, foams, suspensions, gels, ointments, and tablets.

The aforesaid compositions can be formulated according to known pharmaceutical procedures. See, for example, Pharmaceutical Sciences, by Remington et al. (17th Edition, Mack Publishing Company, 1985.)

When the composition is enterically coated and is intended for oral administration, it can typically take the form of a tablet or capsule coated with a coating agent that ensures passage of the calcitonin gene related peptide through the stomach and its subsequent release in the intestine. Suitable coating agents include acrylic acid/methacrylic acid ester

copolymers (for example, Eudragit L, Eudragit S, and mixtures thereof.)

The compositions of the present invention can be used in the treatment of various cardiovascular disorders, ulcers, and calcium metabolic disorders.

The compositions will be administered to the patient in dosages that contain an amount of calcitonin gene related peptide effective to treat the disease in question. The amount administered will depend upon the nature of the disease and its severity and ultimately will be determined at the discretion of the physician.

The quantity of CGRP in a unit dose of the compositions of the invention will vary according to the potency of the CGRP and the nature of the compositions. However, in general, a unit dose intended for human use typically contains between 1 and 100 micrograms of CGRP.

When the formulation is a liquid formulation, particularly a spray, the volume of a unit dose typically is in the range of 50 to 200 microliters.

The pH of the compositions of the present invention can vary within a broad range according to the chemico-physical properties of the different ingredients in the compositions. However, the pH of the composition is suitably in the range from pH 3 to 8, particularly from approximately pH 4.5 to approximately pH 6.

In order to maintain a particular pH value, buffering agents can be used.

Examples of buffering agents are citrates, phosphates, or acetates, a concrete example of which is a mixture of citric acid and sodium citrate.

The concentration of the glycyrrhizinate absorption enhancer typically is at least 0.1 % (w/w), suitably 0.5 to 10 % (w/w), and preferably 0.5 to 5 % (w/w), of the total weight of the composition. /6

Where the composition is a liquid or gel composition, the glycyrrhizinate suitably is present in an amount corresponding to between 0.5 g and 5 g per 100 mL of the composition. Preferably, the glycyrrhizinate is present in an amount corresponding to approximately 2 g/100 mL.

For aqueous compositions, the final pharmaceutical form, that is, liquid solution or gel, will depend upon the pH and the ionic strength of the solution that contains glycyrrhizinate. In general, compositions having a pH of about 4.5 and above will exist as liquids, while compositions having a lower pH value will tend to be more viscous and, at around pH 3.5, will exist in a gel form.

The present invention will be illustrated in greater detail by the following working examples.

WORKING EXAMPLES 1 - 4

TABLE 1

	Example No.			
	1	2	3	4
h-CGRP (mg)	1.05	1.05	1.05	1.05
Ammonium glycyrrhizinate (g)	0.5	1	2	5
Citric acid (mg)	37	37	37	37
Sodium citrate dihydrate (mg)	463	463	463	463
Distilled water	quantities to set the content to 100 mL			
1N sodium hydroxide	quantities to set the pH to 6			

The formulations of Examples 1 to 4 are prepared by mixing together the ammonium glycyrrhizinate, citric acid, sodium citrate dihydrate, distilled water, and sodium hydroxide in a water bath regulated at a temperature of about 60°C. The resulting solution is allowed to cool to room temperature, and the h-CGRP is then added.

WORKING EXAMPLES 5-8

TABLE 2

	Example No.			
	5	6	7	8
h-CGRP (mg)	21.10	21.10	21.10	21.10
Ammonium glycyrrhizinate (g)	0.5	1	2	5
Citric acid (mg)	37	37	37	37
Sodium citrate dihydrate (mg)	463	463	463	463
Distilled water	quantities to set the content to 100 mL			
1N sodium hydroxide	quantities to set the pH to 6			

The formulations of Examples 5 to 8 are prepared by mixing together the ammonium glycyrrhizinate, citric acid, sodium citrate dihydrate, distilled water, and sodium hydroxide in a water bath regulated at a temperature of about 60°C. The resulting solution is allowed to cool to room temperature, and the h-CGRP is then added.

WORKING EXAMPLES 9 -12

TABLE 3

	Example No.			
	9	10	11	12
h-CGRP (mg)	52.50	52.50	52.50	52.50
Ammonium glycyrrhizinate (g)	0.5	1	2	5
Citric acid (mg)	37	37	37	37
Sodium citrate dihydrate (mg)	463	463	463	463
Distilled water	quantities to set the content to 100 mL			
1N sodium hydroxide	quantities to set the pH to 6			

The formulations of Examples 9 to 12 are prepared by mixing together the ammonium glycyrrhizinate, citric acid, sodium citrate dihydrate, distilled water, and sodium hydroxide in a water bath regulated at a temperature of about 60°C. The resulting solution is allowed to cool to room temperature, and the h-CGRP is then added.

WORKING EXAMPLES 13 - 16

17

TABLE 4

	Example No.			
	13	14	15	16
h-CGRP (mg)	1.05	1.05	1.05	1.05
Ammonium glycyrrhizinate (g)	0.5	1	2	5
Citric acid (mg)	37	37	37	37
Sodium citrate dihydrate (mg)	463	463	463	463
Methyl p-hydroxybenzoate (mg)	130	130	130	130
Propyl p-hydroxybenzoate (mg)	20	20	20	20
Distilled water	quantities to set the content to 100 mL			
1N sodium hydroxide	quantities to set the pH to 6			

The formulations of Examples 13 to 16 are prepared by mixing together the ammonium glycyrrhizinate, citric acid, sodium citrate dihydrate, methyl p-hydroxybenzoate, propyl p-hydroxybenzoate, distilled water, and sodium hydroxide in a water bath regulated at a temperature of about 60°C. The resulting solution is allowed to cool to room temperature, and the h-CGRP is then added.

WORKING EXAMPLES 17 - 20

TABLE 5

	Example No.			
	17	18	19	20
h-CGRP (mg)	21.10	21.10	21.10	21.10
Ammonium glycyrrhizinate (g)	0.5	1	2	5
Citric acid (mg)	37	37	37	37
Sodium citrate dihydrate (mg)	463	463	463	463
Methyl p-hydroxybenzoate (mg)	130	130	130	130
Propyl p-hydroxybenzoate (mg)	20	20	20	20
Distilled water	quantities to set the content to 100 mL			
1N sodium hydroxide	quantities to set the pH to 6			

The formulations of Examples 17 to 20 are prepared by mixing together the ammonium glycyrrhizinate, citric acid, sodium citrate dihydrate, methyl p-hydroxybenzoate, propyl p-hydroxybenzoate, distilled water, and sodium hydroxide in a water bath regulated at a temperature of about 60°C. The resulting solution is allowed to cool to room temperature, and the h-CGRP is then added.

WORKING EXAMPLES 21 - 24

TABLE 6

	Example No.			
	21	22	23	24
h-CGRP (mg)	52.50	52.50	52.50	52.50
Ammonium glycyrrhizinate (g)	0.5	1	2	5
Citric acid (mg)	37	37	37	37
Sodium citrate dihydrate (mg)	463	463	463	463
Methyl p-hydroxybenzoate (mg)	130	130	130	130
Propyl p-hydroxybenzoate (mg)	20	20	20	20
Distilled water	quantities to set the content to 100 mL			
1N sodium hydroxide	quantities to set the pH to 6			

The formulations of Examples 21 to 24 are prepared by mixing together the ammonium glycyrrhizinate, citric acid, sodium citrate dihydrate, methyl p-hydroxybenzoate, propyl p-hydroxybenzoate, distilled water, and sodium hydroxide in a water bath regulated at a temperature of about 60°C. The resulting solution is allowed to cool to room temperature, and the h-CGRP is then added.

WORKING EXAMPLES 25 - 27

TABLE 7

	Example No.		
	25	26	27
h-CGRP (mg)	1.05	21.10	52.50
Ammonium glycyrrhizinate (g)	0.5	0.5	0.5
Citric acid (mg)	37	37	37
Sodium citrate dihydrate (mg)	463	463	463
Methyl p-hydroxybenzoate (mg)	130	130	130
Propyl p-hydroxybenzoate (mg)	20	20	20
Distilled water	quantities to set the content to 100 mL		
1N sodium hydroxide	quantities to set the pH to 6		

The formulations of Examples 25 to 27 are prepared by mixing together the ammonium glycyrrhizinate, citric acid, sodium citrate dihydrate, methyl p-hydroxybenzoate, propyl p-hydroxybenzoate, distilled water, and sodium hydroxide in a water bath regulated at a temperature of about 60°C. The resulting solution is allowed to cool to room temperature, and the h-CGRP is then added. The formulations of these examples are gels.

TABLE 8

	Example No.			
	28	29	30	31
h-CGRP (mg)	1.05	1.05	1.05	1.05
Ammonium glycyrrhizinate (g)	0.5	1	2	5
Citric acid (mg)	37	37	37	37
Sodium citrate dihydrate (mg)	463	463	463	463
Methyl p-hydroxybenzoate (mg)	130	130	130	130
Propyl p-hydroxybenzoate (mg)	20	20	20	20
Sodium chloride (mg)	600	600	600	600
Distilled water	quantities to set the content to 100 mL			
1N sodium hydroxide	quantities to set the pH to 6			

The formulations of Examples 28 to 31 are prepared by mixing together the ammonium glycyrrhizinate, citric acid, sodium citrate dihydrate, methyl p-hydroxybenzoate, propyl p-hydroxybenzoate, sodium chloride, distilled water, and sodium hydroxide in a water bath regulated at a temperature of about 60°C. The resulting solution is allowed to cool to room temperature, and the h-CGRP is then added.

WORKING EXAMPLES 32 - 35

TABLE 9

	Example No.			
	32	33	34	35
h-CGRP (mg)	21.10	21.10	21.10	21.10
Ammonium glycyrrhizinate (g)	0.5	1	2	5
Citric acid (mg)	37	37	37	37
Sodium citrate dihydrate (mg)	463	463	463	463
Methyl p-hydroxybenzoate (mg)	130	130	130	130
Propyl p-hydroxybenzoate (mg)	20	20	20	20
Sodium chloride (mg)	600	600	600	600
Distilled water	quantities to set the content to 100 mL			
1N sodium hydroxide	quantities to set the pH to 6			

The formulations of Examples 32 to 35 are prepared by mixing together the ammonium glycyrrhizinate, citric acid, sodium citrate dihydrate, methyl p-hydroxybenzoate, propyl p-hydroxybenzoate, sodium chloride, distilled water, and sodium hydroxide in a water bath regulated at a temperature of about 60°C. The resulting solution is allowed to cool to room temperature, and the h-CGRP is then added.

WORKING EXAMPLES 36 - 39

TABLE 10

	Example No.			
	36	37	38	39
h-CGRP (mg)	52.20	52.50	52.50	52.50
Ammonium glycyrrhizinate (g)	0.5	1	2	5
Citric acid (mg)	37	37	37	37
Sodium citrate dihydrate (mg)	463	463	463	463
Methyl p-hydroxybenzoate (mg)	130	130	130	130
Propyl p-hydroxybenzoate (mg)	20	20	20	20
Sodium chloride (mg)	600	600	600	600
Distilled water	quantities to set the content to 100 mL			
1N sodium hydroxide	quantities to set the pH to 6			

The formulations of Examples 36 to 39 are prepared by mixing together the ammonium glycyrrhizinate, citric acid, sodium citrate dihydrate, methyl p-hydroxybenzoate, propyl p-hydroxybenzoate, sodium chloride, distilled water, and sodium hydroxide in a water bath regulated at a temperature of about 60°C. The resulting solution is allowed to cool to room temperature, and the h-CGRP is then added.

WORKING EXAMPLES 40 - 43

TABLE 11

	Example No.			
	40	41	42	43
h-CGRP (mg)	1.05	1.05	1.05	1.05
Ammonium glycyrrhizinate (g)	0.5	1	2	5
Citric acid (mg)	37	37	37	37
Sodium citrate dihydrate (mg)	463	463	463	463
Methyl p-hydroxybenzoate (mg)	130	130	130	130
Propyl p-hydroxybenzoate (mg)	20	20	20	20
Sodium chloride (mg)	600	600	600	600
Polysorbate 80 (mg)	5	5	5	5
Distilled water	quantities to set the content to 100 mL			
1N sodium hydroxide	quantities to set the pH to 6			

The formulations of Examples 40 to 43 are prepared by mixing together the ammonium glycyrrhizinate, citric acid, sodium citrate dihydrate, methyl p-hydroxybenzoate, propyl p-hydroxybenzoate, sodium chloride, polysorbate 80, distilled water, and sodium hydroxide in a water bath regulated at a temperature of about 60°C. The resulting solution is allowed to cool to room temperature, and the h-CGRP is then added.

TABLE 12

	Example No.			
	44	45	46	47
h-CGRP (mg)	21.10	21.10	21.10	21.10
Ammonium glycyrrhizinate (g)	0.5	1	2	5
Citric acid (mg)	37	37	37	37
Sodium citrate dihydrate (mg)	463	463	463	463
Methyl p-hydroxybenzoate (mg)	130	130	130	130
Propyl p-hydroxybenzoate (mg)	20	20	20	20
Sodium chloride (mg)	600	600	600	600
Polysorbate 80 (mg)	5	5	5	5
Distilled water	quantities to set the content to 100 mL			
1N sodium hydroxide	quantities to set the pH to 6			

The formulations of Examples 44 to 47 are prepared by mixing together the ammonium glycyrrhizinate, citric acid, sodium citrate dihydrate, methyl p-hydroxybenzoate, propyl p-hydroxybenzoate, sodium chloride, polysorbate 80, distilled water, and sodium hydroxide in a water bath regulated at a temperature of about 60°C. The resulting solution is allowed to cool to room temperature, and the h-CGRP is then added.

WORKING EXAMPLES [sic]

TABLE 13

	Example No.			
	48	49	50	51
h-CGRP (mg)	52.20	52.50	52.50	52.50
Ammonium glycyrrhizinate (g)	0.5	1	2	5
Citric acid (mg)	37	37	37	37
Sodium citrate dihydrate (mg)	463	463	463	463
Methyl p-hydroxybenzoate (mg)	130	130	130	130
Propyl p-hydroxybenzoate (mg)	20	20	20	20
Sodium chloride (mg)	600	600	600	600
Polysorbate 80 (mg)	5	5	5	5
Distilled water	quantities to set the content to 100 mL			
1N sodium hydroxide	quantities to set the pH to 6			

The formulations of Examples 48 to 51 are prepared by mixing together the ammonium glycyrrhizinate, citric acid, sodium citrate dihydrate, methyl p-hydroxybenzoate, propyl p-hydroxybenzoate, sodium chloride, polysorbate 80, distilled water, and sodium hydroxide in a water bath regulated at a temperature of about 60°C. The resulting solution is allowed to cool to room temperature, and the h-CGRP is then added.

WORKING EXAMPLES 52 - 55

TABLE 14

	Example No.			
	52	53	54	55
h-CGRP (mg)	1.05	1.05	1.05	1.05
Ammonium glycyrrhizinate (g)	0.5	1	2	5
Citric acid (mg)	37	37	37	37
Sodium citrate dihydrate (mg)	463	463	463	463
Methyl p-hydroxybenzoate (mg)	130	130	130	130
Propyl p-hydroxybenzoate (mg)	20	20	20	20
Sodium chloride (mg)	600	600	600	600
Polysorbate 80 (mg)	5	5	5	5
Distilled water	quantities to set the content to 100 mL			
1N sodium hydroxide	quantities to set the pH to 6			

The formulations of Examples 52 to 55 are prepared by mixing together the ammonium glycyrrhizinate, citric acid, sodium citrate dihydrate, methyl p-hydroxybenzoate, propyl p-hydroxybenzoate, sodium chloride, polysorbate 80, distilled water, and sodium hydroxide in a water bath regulated at a temperature of about 60°C. The resulting solution is allowed to cool to room temperature, and the h-CGRP is then added.

WORKING EXAMPLES 56 - 59

TABLE 15

	Example No.			
	56	57	58	59
h-CGRP (mg)	21.10	21.10	21.10	21.10
Ammonium glycyrrhizinate (g)	0.5	1	2	5
Citric acid (mg)	37	37	37	37
Sodium citrate dihydrate (mg)	463	463	463	463
Methyl p-hydroxybenzoate (mg)	130	130	130	130
Propyl p-hydroxybenzoate (mg)	20	20	20	20
Sodium chloride (mg)	600	600	600	600
Polysorbate 80 (mg)	5	5	5	5
Distilled water	quantities to set the content to 100 mL			
1N sodium hydroxide	quantities to set the pH to 6			

The formulations of Examples 56 to 59 are prepared by mixing together the ammonium glycyrrhizinate, citric acid, sodium citrate dihydrate, methyl p-hydroxybenzoate, propyl p-hydroxybenzoate, sodium chloride, polysorbate 80, distilled water, and sodium hydroxide in a water bath regulated at a temperature of about 60°C. The resulting solution is allowed to cool to room temperature, and the h-CGRP is then added.

TABLE 16

	Example No.			
	60	61	62	63
h-CGRP (mg)	52.20	52.50	52.50	52.50
Ammonium glycyrrhizinate (g)	0.5	1	2	5
Citric acid (mg)	37	37	37	37
Sodium citrate dihydrate (mg)	463	463	463	463
Methyl p-hydroxybenzoate (mg)	130	130	130	130
Propyl p-hydroxybenzoate (mg)	20	20	20	20
Sodium chloride (mg)	600	600	600	600
Polysorbate 80 (mg)	5	5	5	5
Distilled water	quantities to set the content to 100 mL			
1N sodium hydroxide	quantities to set the pH to 6			

The formulations of Examples 60 to 63 are prepared by mixing together the ammonium glycyrrhizinate, citric acid, sodium citrate dihydrate, methyl p-hydroxybenzoate, propyl p-hydroxybenzoate, sodium chloride, polysorbate 80, distilled water, and sodium hydroxide in a water bath regulated at a temperature of about 60°C. The resulting solution is allowed to cool to room temperature, and the h-CGRP is then added.

WORKING EXAMPLES 64 - 65

TABLE 17

	Example No.	
	64	65
c-CGRP (mg)	0.56	20.50
Ammonium glycyrrhizinate (g)	2	2
Citric acid (mg)	37	37
Sodium citrate dihydrate (mg)	463	463
Methyl p-hydroxybenzoate (mg)	130	130
Propyl p-hydroxybenzoate (mg)	20	20
Sodium chloride (mg)	600	600
Distilled water	quantities to set the content to 100 mL	
1N sodium hydroxide	quantities to set the pH to 6	

The formulations of Examples 64 and 65 are prepared by mixing together the ammonium glycyrrhizinate, citric acid, sodium citrate dihydrate, methyl p-hydroxybenzoate, propyl p-hydroxybenzoate, sodium chloride, distilled water, and sodium hydroxide in a water bath regulated at a temperature of about 60°C. The resulting solution is allowed to cool to room temperature, and the h-CGRP [sic] is then added.

WORKING EXAMPLES 66 - 68

TABLE 18

	Example No.		
	66	67	68
h-CGRP (mg)	1.05	21.10	52.50
Ammonium glycyrrhizinate (g)	2.0	2.0	2.0
Lactose required to set the content to the values on the right (g)	25.0	25.0	25.0

The formulations of Examples 66 to 68 are prepared by wetting the lactose with an aqueous solution of h-CGRP and drying under vacuum. The dried powder is mixed with ammonium glycyrrhizinate, and the final mixture is placed into gelatin capsules (25 mg each capsule.) The powder is administered, after having pierced the capsules, using a nasal insufflator.

Sublingual tablets

WORKING EXAMPLES 69 - 71

TABLE 19

	Example No.		
	69	70	71
h-CGRP (mg)	2.10	21.10	52.50
Ammonium glycyrrhizinate (g)	4.0	4.0	4.0
Sucrose (g)	35.0	35.0	35.0
Mannitol (g)	35.0	35.0	35.0
Polyethylene glycol 6000 (g)	10.0	10.0	10.0
Lactose required to set the content to the values on the right (g)	120.0	120.0	120.0

The formulations of Examples 69 to 71 are prepared by mixing together the sucrose, the mannitol, and the lactose. The resulting mixture is wetted with an aqueous solution of h-CGRP, granulated through a stainless steel screen, and dried under vacuum. The dried granules are mixed with polyethylene glycol and ammonium glycyrrhizinate and then compressed into tablets of 120 mg each.

Oral tablets for colonic delivery

/11

WORKING EXAMPLES 72 - 74

TABLE 20

	Example No.		
	72	73	74
h-CGRP (mg)	21.10	52.50	103.20
Ammonium glycyrrhizinate (g)	6.0	6.0	6.0
Pregelatinized starch (g)	80.0	80.0	80.0
Magnesium stearate (g)	2.0	2.0	2.0
Lactose required to set the content to the values on the right (g)	210.0	210.0	210.0
Eudragit S (g)	20.0	20.0	20.0
Polyethylene glycol 6000 (g)	2.0	2.0	2.0

The formulations of Examples 72 to 74 are prepared by mixing together the pregelatinized starch and the lactose. The resulting mixture is wetted with an aqueous solution of h-CGRP, granulated through a stainless steel screen, and dried under vacuum. The dried granules are mixed with ammonium glycyrrhizinate and magnesium stearate and then compressed into tablets of 210 mg each.

The tablets are coated with an aqueous suspension of polyethylene glycol and Eudragit, to a final weight of 232 mg/tablet.

Example 75

Trial A

The formulation reported in Example 32, which contained 0.5 % of ammonium glycyrrhizinate as the absorption enhancer, and the formulation reported in Example 34, which contained 2 % of ammonium glycyrrhizinate as the absorption enhancer, were compared with other formulations on a test of pharmacodynamic activity, that is, lowering of calcium concentration in the serum. The formulations used for the comparison were as follows:

a formulation containing the same concentration of h-CGRP and the same excipients with the exception of the ammonium glycyrrhizinate (reference formulation A); a formulation containing the same concentration of h-CGRP, 0.01 % of benzalkonium chloride, and citrates as excipients (reference formulation B); and a formulation containing the same concentration of h-CGRP, 1 % of sodium taurocholate, 0.15 % of parabens, and citrates (reference formulation C.)

These formulations were administered intranasally with a small catheter (in the volume of 10 microliters) to groups of 10 male Sprague Dawley rats weighing 160 ± 10 g. The animals, fasted overnight, were anaesthetized with 2 % tribromoethanol (TBE) (0.9 mL/100 g b.w. given i.p.) 15 minutes before receiving h-CGRP.

Serum calcium concentration was measured (with an atomic absorption spectrophotometer VARIAM 30/40) on blood samples obtained in each animal, from the orbital sinus, 60, 120, and 180 minutes after administration of the product. Base values were obtained at the same times in animals fasted and anaesthetized as described above but receiving no treatment.

The results are reported in Table 21.

TABLE 21

	Dosage (microgram/kg)	Percent decrease of serum calcium (as compared with base values)	1h	2h	3h
Formulation of this invention (Reported in Example 32)	13.18	15.7	10.1	0.3	
Formulation of this invention (Reported in Example 34)	13.18	18.3	16.2	5.1	
Reference formulation A	13.18	8.4	3.5	1.1	
Reference formulation B	13.18	7.8	2.1	0.1	
Reference formulation C	13.18	12.3	8.9	1.5	

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER: _____**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.